

K⁺ チャネル開口薬の血管弛緩機序に関する研究 - アゴニストによるCa²⁺ 放出に対する作用について-

著者	山岸 俊夫
号	1254
発行年	1995
URL	http://hdl.handle.net/10097/21093

氏 名（本籍） やま ぎし とし お
山 岸 俊 夫

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 博 第 1 2 5 4 号

学位授与年月日 平 成 7 年 3 月 24 日

学位授与の条件 学位規則第4条第1項該当

研 究 科 専 攻 東北大学大学院医学系研究科
（博士課程）内科学系専攻

学 位 論 文 題 目 K⁺ チャネル開口薬の血管弛緩機序に関する研究
ーアゴニストによる Ca²⁺ 放出に対する作用につ
いてー

（主 査）
論文審査委員 教授 阿 部 圭 志 教授 西 山 明 徳

教授 渡 邊 建 彦

論文内容要旨

K⁺ チャネル開口薬の血管弛緩機序は一般的に膜電位を K⁺ 平衡電位に近づけるという過分極作用により、電位依存性 Ca²⁺ チャネルを脱活性化して平滑筋を弛緩すると考えられている。しかし最近の研究により細胞内 Ca²⁺ 貯蔵部位への Ca²⁺ 取り込みや Ca²⁺ 放出を K⁺ チャネル開口薬が直接抑制する可能性が示唆されてきている。そこで K⁺ チャネル開口薬の別の弛緩機序を明らかにする目的で、アゴニストの U46619 (トロンボキサン A₂ 類似体) による冠動脈の収縮に対する K⁺ チャネル開口薬 cromakalim と Ki4032 の作用について検討した。

【方 法】

イヌあるいはブタの左冠動脈を摘出し、内皮を除去し反転し、リング標本を作製した。そして fura-2 法により、細胞内 Ca²⁺ 濃度と張力の同時測定を行った。各実験の前に 90mM KCl-PSS による収縮を 10 分間行い、収縮前の値と 90mM KCl-PSS による収縮の 10 分値の差を 100% としてその後の実験反応を%表示した。また Amersham のラジオイムノアッセイキットにより種々の条件下で U46619 のイノシトール三リン酸 (IP₃) の産生量を測定した。

【結 果】

1. イヌ冠動脈を用いた実験では、細胞外 Ca²⁺ (2.5mM) 存在下では、U46619 (300nM) により細胞内 Ca²⁺ 濃度と張力は phasic および tonic な上昇を認めた。細胞内 Ca²⁺ 濃度と張力のピーク値は各々約 40% と約 60% であった。Cromakalim (10 μM) または Ki4032 (100 μM) の存在下ではほぼ完全にこの上昇は抑制された (n=6)。
2. 細胞外 Ca (2.5mM) 非存在下では、U46619 は phasic な細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇とそれに伴う張力の上昇をみた。細胞内 Ca²⁺ 濃度と張力のピーク値は各々約 18% と約 32% であった。Cromakalim (0.01–10 μM) と Ki4032 (0.1–100 μM) はこの細胞内 Ca²⁺ 濃度と張力の上昇を濃度依存的に抑制した。Cromakalim の細胞内 Ca²⁺ 濃度と張力に対する pD₂ 値は各々 6.88 ± 0.38, 6.85 ± 0.38 であり、Ki4032 のこれらの値は各々 5.67 ± 0.56, 4.96 ± 0.14 であった (n=4–6)。またブタ冠動脈を用いた実験でも U46619 は phasic な細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇とそれに伴う張力の上昇を cromakalim (10 μM) は抑制した。
3. この cromakalim と Ki4032 の抑制作用は非特異的 K⁺ チャネル遮断剤の TBA (tetra-butylammonium) で拮抗され、20mM KCl-PPS による脱分極により打ち消された (n=4–6)。尚、細胞外 Ca²⁺ 非存在下では TBA および 20mM KCl-PSS による脱分極は U46619 の作用に影響

響を与えなかった。

4. Cromakalim と Ki4032 は caffeine (25mM) による細胞内 Ca^{2+} 遊離作用を抑制しなかった。

5. イヌ冠動脈において U46619 (300nM) により IP_3 は、基礎値 $2.0 \pm 0.6 \text{ pmol/mg}$ から、20 秒時にピーク値 $5.6 \pm 0.7 \text{ pmol/mg}$ に上昇し、300 秒後には基礎値近くまで戻った。Cromakalim ($10 \mu\text{M}$) はこの上昇を有意に抑制し、TBA や 20mM KCl-PSS による脱分極によりこの抑制作用は拮抗あるいは打ち消された。またブタ冠動脈においても同様の結果を得た。

【考 察】

冠動脈において cromakalim と Ki4032 は トロンボキサン A_2 類似体の U46619 による細胞内 Ca^{2+} 放出作用を抑制するが caffeine による放出作用は抑制しないことが明らかとなった。またこの K^+ チャネル開口薬の抑制作用は、 K^+ チャネル遮断剤の TBA で拮抗され、20mM KCl-PSS により脱分極で打ち消されたことから、 K^+ チャネル開口薬の細胞膜の過分極作用により、U46619 の IP_3 産生を抑制することに起因すると考えられた。

従来 K^+ チャネル開口薬は、過分極作用により電位依存性 Ca^{2+} チャネルを脱活性化して平滑筋を弛緩すると考えられていた。本研究により K^+ チャネル開口薬が トロンボキサン A_2 による IP_3 生成と Ca^{2+} 放出を抑制することが明らかとなった。生体内では トロンボキサン A_2 は強力な血小板凝集作用とともに血管収縮作用を有する物質であり、心筋梗塞や脳梗塞といった虚血性疾患に関与すると考えられてる。従って K^+ チャネル開口薬は Ca^{2+} 拮抗剤と同様に Ca^{2+} 流入を抑制するだけでなく、 Ca^{2+} 拮抗剤ではみられない Ca^{2+} 放出に対する抑制作用をもつのでそれだけ トロンボキサン A_2 による血管収縮を抑制することになる。

審 査 結 果 の 要 旨

この十数年間に K^+ チャンネル開口薬と呼ばれる一群の薬が登場してきた。血管平滑筋に対するその薬理学的作用は細胞膜の ATP 感受性 K^+ チャンネルを開口し、膜電位を K^+ 平衡電位に近づけるという過分極作用により電位依存性 Ca^{2+} チャンネルを脱活性化して細胞内 Ca^{2+} 濃度を減少させ、その結果、平滑筋を弛緩すると考えられてきた。代表的なものとして抗狭心症薬として使われているニコランジルがある。しかしこれは亜硝酸剤と K^+ チャンネル開口薬の双方の作用を持つ N-K hybrid であり、純粋な K^+ チャンネル開口薬ではなかった。その後、より特異的な K^+ チャンネル開口薬としてクロマカリウム、その活性左旋体レブクロマカリウムなどが開発され作用機序に関する研究が進んだ。血管平滑筋においてアゴニストの受容体刺激による収縮メカニズムは単純に細胞膜を高 KCl で脱分極させた時のメカニズムよりも複雑であるが、アゴニストによる収縮も K^+ チャンネル開口薬で効果的に抑制されることが知られるようになった。最近の研究により、細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位への Ca^{2+} 取り込みやアゴニストによる Ca^{2+} 放出をクロマカリウムが直接抑制する可能性が示唆されてきた。

筆者は K^+ チャンネル開口薬の別の弛緩機序を明らかにする目的で、アゴニストの U46619 (トロンボキサン A_2 類似体) による冠動脈の収縮に対する K^+ チャンネル開口薬クロマカリウムと Ki4032 の作用について検討した。その結果、冠動脈においてクロマカリウムと Ki4032 はトロンボキサン A_2 類似体の U46619 による細胞内 Ca^{2+} 放出作用を抑制するがカフェインによる放出作用は抑制しないことが明らかになった。またこの K^+ チャンネル開口薬の抑制作用は、 K^+ チャンネル開口薬の細胞膜の過分極作用により、U46619 の IP_3 産生を抑制することに起因すると考えられた。

本研究では、トロンボキサン A_2 受容体を介した血管収縮は虚血性心疾患に関与すると考えられることや、冠動脈は K^+ チャンネル開口薬による臨床的治療が有効な場所であることから冠動脈を実験対象として選び、トロンボキサン A_2 類似体を利用し、(1)イヌ及びブタ冠動脈でトロンボキサン A_2 類似体 U46619 を介してより IP_3 が増加すること、(2)この IP_3 産生が U46619 による Ca^{2+} 放出作用と実際に関係していることを示したこと、(3) K^+ チャンネル開口薬が単なる間接的な Ca^{2+} 拮抗剤でなく、その細胞膜過分極作用でアゴニストによる IP_3 産生、 Ca^{2+} 放出を抑制することを示したこと、(4)細胞膜過分極作用がホスホリパーゼ C という酵素の活性を抑制する新しいシグナル伝達系の存在を示唆した点で独創的であり、十分学位に価すると考えられる。